

Bi202c KURZ ZÁKLADŮ PROTEOMIKY

ČASOVÝ ROZVRH:

<u>PONDĚLÍ</u>	7:50- 7:55	Zahájení praktika (UKB, A2, 2.NP, místnost č. 211, Dr. Hejátko)
	8:00 – 9:00	2-D elektroforéza – rehydratace proužků
	9:00 – 9:30	Expresse rekombinantních proteinů – zaočkování expresní kultury
	9:30 – 10:30	Úvod do experimentální části (přednáška)
	9:30-9:40	2-D elektroforéza (Dr. Konečná)
	9:40-9:45	MS analýza (Dr. Zdráhal)
	9:45-10:30	Rekombinantní proteiny (Mgr. Fohlerová)
	10:30 – 11:30	PAGE analýza – příprava gelů (SDS-PAGE, nativní PAGE)
	11:30 – 12:30	OBĚD
	12:30 – 13:30	Expresse rekombinantních proteinů – indukce PAGE analýza – příprava gelů (SDS-PAGE, nativní PAGE)
13:30 – 15:00	In-solution proteolytické štěpení směsi proteinů pro LC-MSMS analýzu	
15:00 – 16:00	Struktura proteinů, proteomické databáze	
16:00 – 17:00	Expresse rekombinantních proteinů – sklizeň kultury Příprava noční kultury pro izolaci plazmidové DNA	
17:00 – 18:00	1. rozměr 2-D elektroforézy: izoelektrická fokuzace (IEF)	
<u>ÚTERÝ</u>	8:00 – 9:30	Izolace plazmidové DNA
	9:30– 10:00	Sekvenování - PCR
	10:00 – 10:15	Ukončení in-solution proteolytického štěpení proteinů pro LC-MS/MS analýzu Nasazení vzorků do autosampleru a začátek LC-MS/MS analýzy
	10:15 – 11:30	2. rozměr 2-D elektroforézy: SDS-PAGE
	11:30 – 13:00	OBĚD
13:00 – 15:30	Software pro vyhodnocování 2-D gelů, databáze 2-D gelů Sekvence DNA –čištění vzorku (prostředání skupin)	
<u>STŘEDA</u>	7:30 – 8:30	In-gel proteolytické štěpení proteinů separovaných 2-D elektroforézou
	8:30-13:00	Optimalizace purifikace rekombinantních proteinů na Ni-NTA Sepharose - příprava vzorku - purifikace
		Demonstrační chromatografie – POROS MC/M (BioCAD) PAGE analýza rekombinantních proteinů - příprava vzorků - SDS-PAGE analýza
	13:00 – 14:00	Stanovení koncentrace proteinů metodou dle Bradfordové OBĚD
	14:00 – 15:00	Sekvenování DNA – vyhodnocení výsledků

ČTVRTEK

7:30 – 9:00	Nativní PAGE analýza
9:00 – 11:00	Analýza proteomu – identifikace proteinů metodou MALDI-TOF MS (ukončení in-gel proteolytického štěpení proteinů separovaných 2-D elektroforézou a analýza vzorků MALDI-TOF hmotnostní spektrometrií)
11:00 – 13:00	Ukončení nativní PAGE – aktivní barvení (MUG) - Western blotting
13:00 – 14:00	OBĚD
14:00 – 16:30	Western blotting
Dle dohody	→ Analýza obrazu – denzitometrická měření (čistota purifikovaných proteinů)
	→ Vyhodnocení sekvenování DNA, čtecí rámec (Work Bench)

PÁTEK

8:00 – 10:00	Vyhodnocení výsledků LC-MSMS a MALDI-TOF MS analýz
10:00 – 12:00	Test + “dodělavky“ (vyhodnocení sekvencí a čistoty purifikovaného vzorku)
12:00 – 13:00	OBĚD
13:00 – 17:00	Vypracování a odevzdání protokolů

Cvičící (legenda):

2-D a příprava pro MS	Dr. Konečná
Analýza obrazu	Mgr. Urbánková
MS analýza	Dr. Zdráhal
Struktura proteinů	Mgr. Mazura
Expres a purifikace rekombinantních proteinů	Mgr. Fohlerová
	Martina Válková
Izolace a purifikace DNA, práce s WorkBench	Dr. Nejedlá
Sekvenování DNA	Mgr. Paděrová